Triiodothyronine과 콜라젠 젤이 인체 정상 기도상피세포에서 점액과 비점액성 분비물의 분비에 미치는 영향

연세대학교 의과대학 이비인후과학교실,[1] National Institute of Environmental Health Sciences, NIH[2]
윤주헌[1] · 김경수[1] · 이정권[1] · 홍정표[1] · Paul Nettesheim[2]

Regulation of Mucin and Non-Mucin Secretions and Gene Expression by Triiodothyronine and Collagen Gel in Human Airway Epithelium

Joo-Heon Yoon, MD[1], Kyung-Su Kim, MD[1], Jeung-Gweon Lee, MD[1], Jung Pyoe Hong, MD[1] and Paul Nettesheim, MD[2]

[1]Department of Otorhinolaryngology, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea,
[2]National Institute of Environmental Health Sciences, NIH, USA

ABSTRACT

Background and Objects : We have been interested in elucidating the role of hormones and growth factors in regulating differentiation and mucin and non-mucin secretions. Our purpose is to investigate the effects of each supplement contained in the culture medium for mucin and non-mucin secretions. **Materials and Methods** : Individual factors were removed from the culture media of normal human tracheobronchial epithelial (NHTBE) cells grown in air-liquid interface cultures. The effects on the cell phenotype, mucin, lysozyme (LZ), and secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) secretion and gene expression were examined. **Results** : Deletion of hydrocortisone, epinephrine, transferrin or amphotericin-gentamycin from the media had no reproducible effects ; Deletion of insulin was incompatible with culture growth. Removal of triiodothyronine selectively increased mucin secretion, but did not affect the gene expression. However, MUC5AC mRNA levels were reproducibly increased, suggesting that the expressions of these two mucin genes were differentially regulated. LZ and SLPI secretion levels were not significantly affected by the deletion of triiodothyronine from the culture media. The LZ mRNA levels were increased in the absence of triiodothyronine whereas the SLPI transcript levels were not affected. Omission of the attachment substratum and the type 1 collagen gel resulted in a significant increase in all 3 secretory products. MUC2 and MUC5AC steady state mRNA levels were not consistently affected. In contrast, LZ and SLPI gene expressions were reproducibly increased. **Conclusion** : This study shows that individual factors in the epithelial environment can regulate the expression of specific secretory cell gene products in a highly selective manner. **(Korean J Otolaryngol 1998;41(4):481-487)**

KEY WORDS : Triiodothyronine · Extracellular matrix · Secretions · Airway epithelial cells.

서 론

각종 비염, 부비동염, 삼출성 중이염, 기관지염 등은 호흡기에서 과분비를 유발시키는 질환으로 이비인후과 및 호흡기 내과에서 상당한 부분을 점유하는 흔한 질환이다. 현재 이런 질환에서 과분비의 기전을 밝히기 위해 많은 연구가 진행되었으나[1)2)] 아직 만족할 만한 결론을 산출하고 있지 못하다.

지금까지 서로 다른 분비물들의 분비 조절기전은 아직 불확실하며 매우 피상적인 지식만이 알려져 있다. 최근 보고는 사이토카인, 성장인자 및 세포외기질이 세포의 분비에도 어떤 역할을 할 수 있음을 암시하고 있다.[3)] 한편 최근까지 점액에 대한 연구는 주로 alcian blue - PAS 조직화학적 염색이나 점액 펩타이드에 붙어 있는 당질을 연구하는 렉틴 조직화학적 염색을 이용한 형태학적 연구와 점액의 구성에 사용되는 아미노산을 방사성물질로 표사하여 그 분비를 간접적으로 연구하는 방법 등으로 진행되어, 점액

논문접수일 : 1997년 8월 25일 / 심사완료일 : 1998년 1월 12일
교신저자 : 윤주헌, 120 - 140 서울 서대문구 신촌동 134번지
연세대학교 의과대학 이비인후과학교실
전화 : (02) 361 - 8484 · 전송 : (02) 393 - 0580
E - mail : jhyoon@yumc.yonsei.ac.kr

의 연구에 많은 제한점들이 있었다. 그러나 최근 점액유전자의 cDNA 구조가 밝혀지면서 점액 분비에 대한 관심이 증가하고 있으며, 호흡기에 발현되는 7개(MUC1, MUC2, MUC4, MUC5 - AC, MUC5B, MUC7, MUC8) 의 점액유전자가 밝혀져 이들의 발현과 조절에 대한 연구가 진행되고 있다. 따라서 저자들은 인체 정상 기도상피세포에서 분비물의 구성에 영향을 주는 인자에 관심을 가져 왔으며 RA 결핍을 유도한 후의 변화에 대해 이미 보고한 바 있다.[4] 이번에는 표준배양액에 사용된 각 성분을 한가지씩 제거하여 그 영향을 예비연구로 진행하였는데 그중 분비물의 구성에 영향이 있었던 triiodothyronine과 세포외기질이 점액유전자(MUC2 및 MUC5AC)와 점액분비에 마치는 영향과 비점액성 분비물인 리소자임과 secretory leukocyte protease inhibitor(SLPI)의 분비와 mRNA 발현에 미치는 영향을 연구하고자 하였다.

재료 및 방법

Air - liquid interface(ALI) 배양

10^5개의 인체 정상 기도상피세포(normal human tracheobronchial epithelial cells, passage - 2, strain 2002, Clonetics Corp., San Diego, CA)를, 반투과성막(Transclear, Costar Corp., Cambridge, MA)에 3.0 mg/ml의 제1형 콜라젠젤(Collaborative Res., New Bedford, MA)을 입혀 ammonium hydroxide가 들어 있는 밀폐된 곳에서 굳힌 후 serum - free, 호르몬과 각종 성장인자가 첨가된 배양액에 부유하여 평판하였다.[5] 세포들은 첫 7일간은 submerged 상태로 두며 배양액은 ALI(Fig. 1)를 만드는 7일까지 위 및 아래쪽 부분을 모두 격일로 갈아주었다. 그후는 배양액은 아래쪽 부분만 매일 교환해 주며 위쪽은 배양액을 제거하여 공기에 노출시켰다. 배양은 37℃, 5% CO_2에서 진행하였다.

조직학

인체 정상 기도상피세포를 14일간 배양한 후 10% 중성 포르말린(neutral bufered formalin)에 고정하여 2% agarose gel에 삽입하여 파라핀에 포매한 후 절단한다. 절단된 조직들은 H & E 염색하였다.

점액, 리소자임 및 SLPI 분비의 면역적 검출 및 정량

배양된 인체 정상 기도상피세포에서 분비물 측정을 위한 방법은 immunoblot assay를 이용하는 Gray 등[5]의 방법을 사용하였다. 분비물은 배양세포들이 24시간 동안 분비한 양을 수집하여 정량하였다. 점액과 리소자임은 immunoblot으로 측정하였고 SLPI는 ELISA(Quantikine™ Human SLPI Immunoassay, R & D systems, Minneapolis, MN)로 측정하였다. 순수 인체점액(a generous gift from Dr. Davis, University of North Carolina, NC, USA)과 리소자임(Sigma, St. Louis, MO)을 표준으로 사용하였다. 일차 항체로는 점액은 단클론성 항체인 17Q2(a generous gift from Dr. Judith St. George, Genzyme Corp., Framingham, MA)을 리소자임은 다클론성 리소자임 항체(Dako, Capintera, CA)를 사용하였다. 배양된 세포에서 채취된 분비물과 표준들은 일정한 비율로 희석하여 나이트로셀룰로

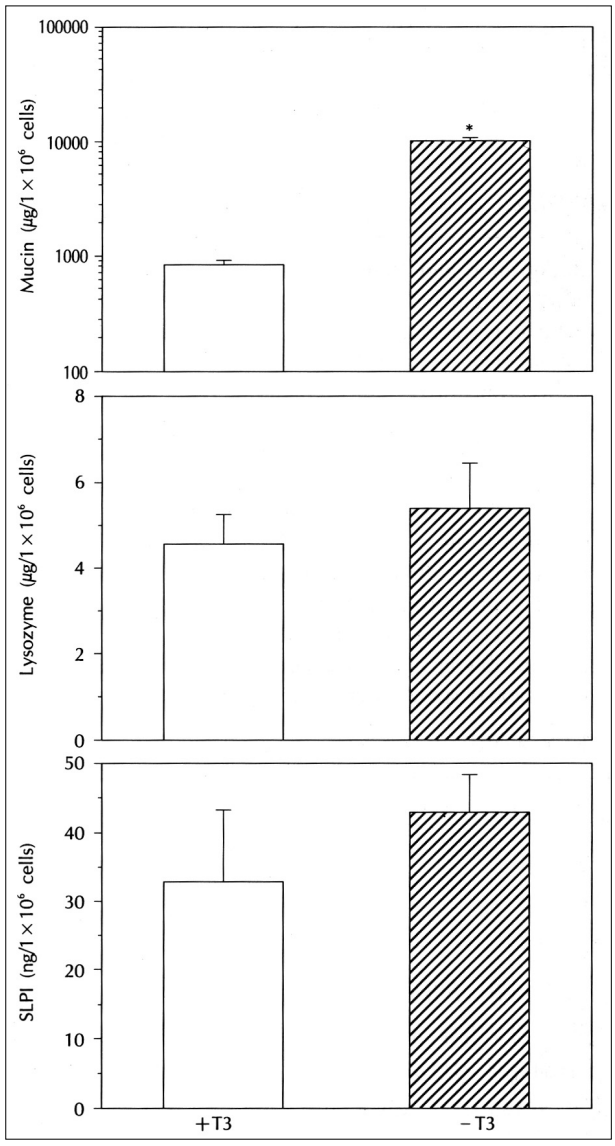

Fig. 1. Effect of T3 on the production of mucin, lysozyyme, and SLPI by NHTBE cells.NHTBE cells were grown in culture medium with (solid) or without (hatched) T3. The levels of mucin, lysozyme, and SLPI present in the apical secretions were determined. *indicates statistically significant differences ($p<0.01$) between the 2 groups.

즈막 혹은 ELISA판에 적용하여 일차항체와 반응시킨 후 horse-radish peroxidase conjugated goat anti-mouse IgG 혹은 anti-rabbit IgG에 반응시켰으며 chemilumi-nescence(ECL kit, Amersham, Buckingamshire, UK)로 발색시켰다. Standard curve를 linear regression analysis를 이용하여 그린 후 각 검사물의 발색정도와 비교하여 그 양을 정량하였다. 리소자임 항체의 특이성은 western blot에 의해 확인하였다.

각 그룹에서 배양된 세포들의 수는 세포들을 트립신처리하여 분리한 후 hemocytometer에 의해 측정하였다. 각 실험결과는 같은 실험을 3번이상 시행하여 평균±표준편차로서 나타냈으며 통계학적 처리는 Student's t-test로 하였다.

점액, 리소자임 및 SLPI mRNA의 발현

SLPI mRNA의 발현을 위한 northern blot

Total DNA를 배양 14일째 세포들에서 Tri-Reagent (Molecular Research Center, Cincinnati, OH)를 이용하여 분리하였으며 10 μg의 RNA를 6.6% 포름알데하이드를 함유하는 1.5% agarose gel에서 전기영동하였다. 223 bp의 SLPI cDNA probe는 인체 기관 RNA로 RT-PCR을 이용하여 만들었다. Sense 및 anti-sense oligonucleotide probes는 인체 SLPI의 이미 발표된 유전자 배열[6](Genbank accession # X04490, 5′ primer : TGCTTGCCCTGG-GAACTC ; 3′ primer : GGCTTCCTCCTTGTTGGG)에 근거하여 만들었다. cDNA PCR fragment는 TA Cloning Kit(Invitrogen, San Diego, CA)를 이용하여 pCR^{TM}IIvector에 넣었다. probe를 만들기 위해 cDN-A insert는 EcoRI으로 제한효소처리하여 추출하였으며 random prime re-action으로 ^{32}P로 방사성 표지하였다. northern blots는 68℃에서 하이브리드형성시켰으며 55℃에서 30분간 0.1X-SSC/0.1% SDS로 세척하였으며 같은 용액에서 실온에서 5분씩 2회 세척하였다. 28S rRNA는 각 그룹간의 RNA loading을 표준화된 것을 검색하기 위해 사용하였으며 ^{32}P end-labelled oligonucleotide probe(GIBCO BRL, Gai-thersburg, MD)로 반응시켰다.

점액과 리소자임 mRNA 발현을 위한 reverse transcr-iptionpolymerase chain reaction

점액과 리소자임 mRNA levels이 Northern blot에 의해 신뢰성있는 결과가 나오지 않아 Guzman 등[7]이 보고한 RT-PCR을 사용하였다. Oligonucleotide primers는 사람 MUC2[8](Genbank accession # L21998, 5′primer : TGCCTGGCCCTGTCTTTG ; 3′ primer : CAGCTC-CAGCATGAGTGC), MUC5AC[9](Genbank accession # U06711, 5′ primer : TCCGGCTCATCTTCTTCC ; 3′ primer : ACTTGGGCACTGGTGCTG), 사람 리소자임[10](Genbank accession #J0380q, 5′ primer : CTCTCAT-TGTTCTGGGGC, 3′ primer : ACGGACAACCCTCTT-TGC)에 대해 이미 발표된 염기배열을 이용해 MUC2는 440 bp, MUC5AC는 680 bp, 리소자임은 350 bp로 디자인하였다. RT-PCR의 control gene으로서 β2 microglobulin (β2M) oligonucleotide amplimers는 335 bp를 만드는데 Clontech Lab.으로부터 구입하였다. RT-PCR은 Perkin Elmer Cetus DNA Thermal Cycler를 이용해 시행하였으며 간단히 방법을 소개하면 total RNA(1 μg/20 μl reaction volume)를 random hexanucleotide primers와 Moloney murine leukemia virus reverse transcriptase를 이용해 cDNA로 reverse transcribe시켰다. 점액과 리소자임을 위해서는 RT reaction의 40%, °C2M에는 4%를 사용해 각 0.2 mM의 primers를 이용해 증폭시켰다. PCR에서 $MgCl_2$의 적당한 농도를 optimization후 denaturation은 95°C에서 1분간, annealing temperature는 리소자임은 55°C, MUC2, MUC5AC 및 β2M은 60°C에서 1분간, extension은 72°C에서 1분간 시행하였다.

저자들은 상기 기술된 각 배양조건에서 각 유전자의 mRNA levels를 비교하기 위해 comparative kinetic analysis를 시행하였다. PCR products는 50 ng/ml ethidium bromide를 함유하는 2% Seakem agarose gel(FMC, Rockland, ME)에서 전기영동으로 분리하여 polaroid type 55 필림으로 사진을 찍었다. Negative films을 Molecular Dynamics Densitometer(Sunnyvale, CA)로 주사하여 그 signal을 ImageQuant software를 이용하여 분석하였다. PCR의 linear range 는 PCR cycle 수 당 발현강도를 정량하여 정하였다. 최종 산물이 mRNA로부터 생기고 genomic DNA의 오염이 없었다는 것을 증명하기 위해 RT reaction에서 reverse transcriptase를 생략하므로써 음성대조군으로 삼았으며 RT-PCR의 특이성은 PCR fragment의 sequencing(dsDNA Cycle Sequencing System, GIBCO BRL)에 의해 확인하였다.

결 과

점액 및 비점액성 분비물의 분비에 대한 triiodothyronine의 효과

Triiodothyronine은 각종 상피세포 배양액의 성분으로

사용되고 있으며 성장과 분화를 촉진시키는 것으로 알려져 있다. 인체 호흡기 상피세포를 다른 성분에는 변화없이 14일간, 6.5 ng/ml triiodothyronine의 존재 유무에 따라 배양했을 때 과연 인체 호흡기 상피세포의 분비에 영향을 주는지를 분석하였다. 배양액에서 triiodothyronine을 제거하였을 때 점액분비는 약 10배정도 증가하였으며 이 결과는 7회 실험에서 3 10배 이상 점액이 증가하는 동일한 결과를 얻었다(Fig. 1). 흥미롭게도 MUC2 유전자는 아무런 변화가 없었으나 MUC5AC 유전자는 triiodothyronine 제거시 역시 7회 실험 모두에서 확실히 증가하는 것이 관찰되었다(Fig. 2). Triiodothyronine 제거시 리소자임 message는 증가하였으나 리소자임 단백질 분비는 증가하지 않았으며(Fig. 1) SLPI 분비 및 mRNA는 배양액에 triiodothyronine 존재유무와 무관하게 비슷하였다(Fig. 2). 한편 control gene으로 사용하였던 β2M mRNA와 28S rRNA는 triiodothyronine에 의해 아무런 영향을 받지 않았다.

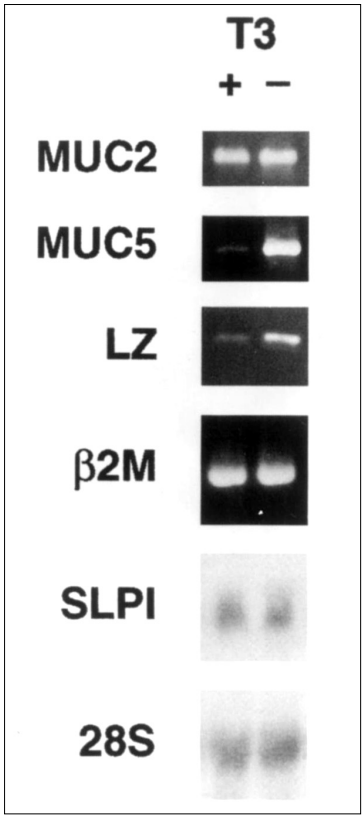

Fig. 2. The effect of T3on the regulation of secretory gene mRNA levels. RNA was collected from day 14 cultures described in Fig. 1 and The expression of MUC2, MUC5AC, lysozyme and the control gene 2M were determined by RT-PCR. The expression of SLPI and loading control 28S rRNA were determined by Northern blotting.

점액 및 비점액성 분비물의 분비에 대한 콜라젠 젤의 효과

지금까지 많은 연구자들은 세포의 부착을 돕는 기질로써 콜라젠 젤을 사용하였으며 이것이 세포에서 분비되는 분비물의 양에 영향을 준다고 보고하고 있다. 저자들은 인체 정상기도상피세포를 콜라젠 젤을 입힌 용기와 콜라젠 젤을 입히지 않은 용기에 평판하여 배양 14일째 total RNA와 분비물을 채취하였다. 콜라젠 젤이 없는 상태에서 배양된 상피세포들은 7회의 실험중 5회에서, 점액분비가 콜라젠 젤

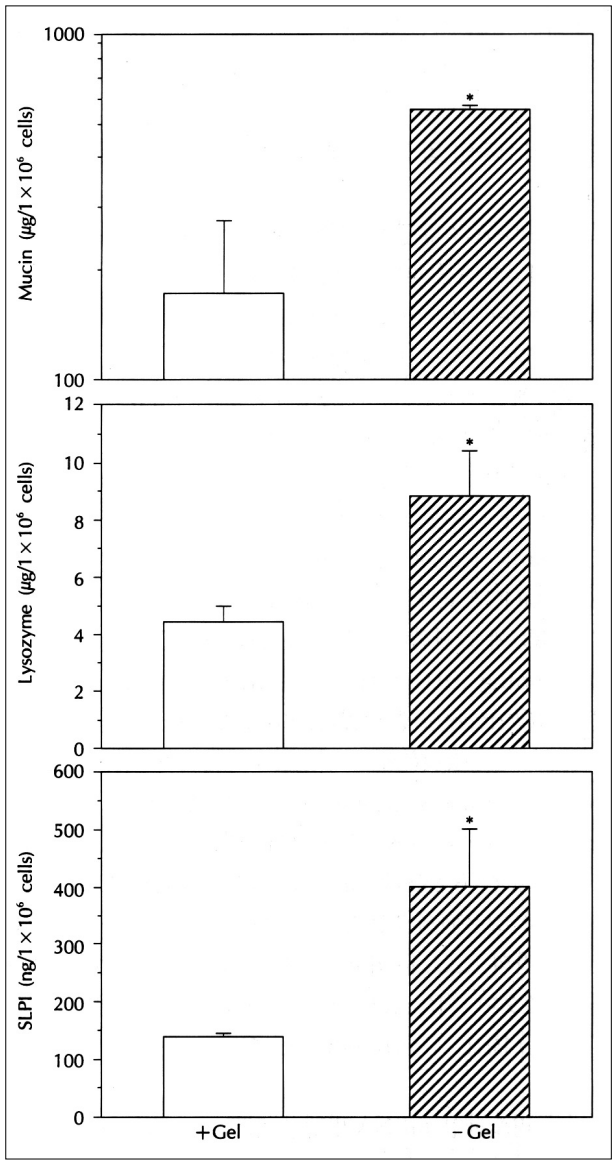

Fig. 3. The effects of collagen gel substratum on secretions produced by NHTBE cells. Apical secretions were collected from day 14 cultures grown on uncoated plastic membrabes (hatched) or on membranes coated with rat tail, type I collagen gel (solid). The amounts of mucin, lysozyme, and SLPI present in the apical secretions were determined. *indicates statistically significant differences between the 2 groups ($p<0.01$ for mucin and <0.05 for lysozyme and SLPI).

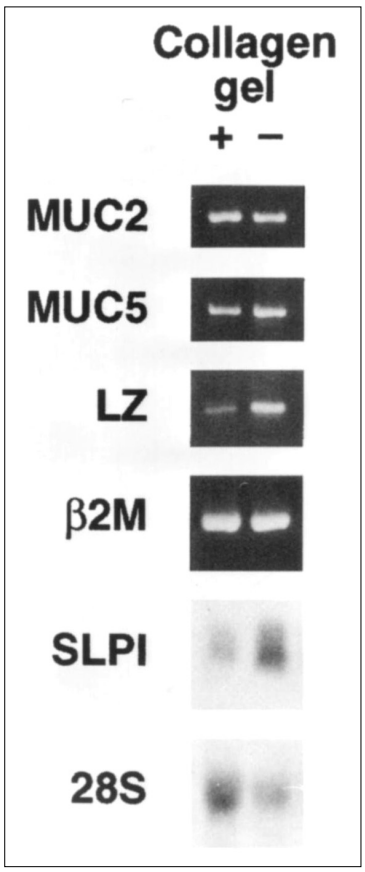

Fig. 4. Effect of collagen gel substratum on secretory gene mRNA levels. RNA was collected from day 14 cultures described in Fig. 3 and the levels of expression of MUC2, MUC5AC, lysozyme and SLPI were determined as described in Fig. 2.

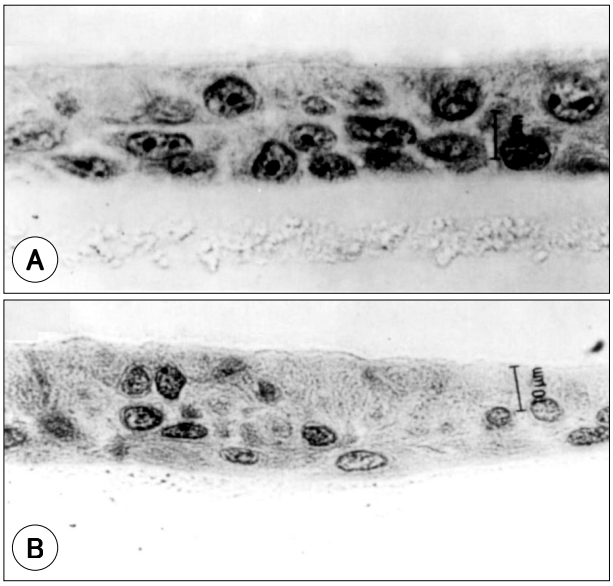

Fig. 5. The effect of collagen gel substratum on the histological appearance of NHTBE cell cultures. Day 14 cultures described in Fig. 3 grown in the presence (A) or absence (B) of collagen gel.

위에서 배양된 세포들과 비교해서 통계학적으로 의의있게 (범위 : 1.4 5배) 증가하였다(Fig. 3). 한편, 모든 실험에서 리소자임과 SLPI 분비는 콜라젠 젤이 없이 배양되었을 때 2 3배 증가하였다(Fig. 3). MUC2와 MUC5AC mRNA는 콜라젠 젤에 의해 영향을 받지 않았으나 리소자임과 SLPI mRNA는 콜라젠 젤이 없을 때 항상 증가하였다(Fig. 4). β2M mRNA와 28S rRNA는 역시 콜라젠 젤에 의해 영향을 받지 않았다. 콜라젠 젤이 없는 상태에서의 상피세포의 형태는 콜라젠 젤 위에서 배양한 상피세포의 형태와 유사하게 극성이 있는 원주 상피세포로 분화가 되었다(Fig. 5).

고 찰

인체 기도 점막의 분비세포는 표면상피세포에 있는 점액성 배세포, 점막하 선조직에 있는 장액성과 점액성 분비세포가 있지만 크게 점액을 분비하는 점액성 분비세포와 비점액성 분비물을 분비하는 장액선 분비세포로 나눌 수 있다. 성인 인체의 기도 표면상피세포에 존재하는 유일한 분비세포는 배세포이며 점막하에서는 점액성 분비세포와 장액성분비세포가 동시에 존재한다. 병원체가 없는 환경에서 자란 설치류는 기도 표면상피세포에서 발견되는 대부분의 분비세포가 장액성 분비세포라고 보고되어 있으나[1)2)] 어떤 자극물질에 노출된 경우, 감염 및 세균성 lipopolysaccharide 등은 장액성 분비세포를 점액성 분비세포로 변화시킬 수 있다고 보고되어 있다.[11)] 여러 학자들은 배양된 기도 상피세포들은 점액유전자뿐만 아니라 비점액성 분비물들의 유전자들도 발현하며 점액과 장액성 분비세포에서 분비하는 리소자임, 락토페린, SLPI 등을 분비한다고 보고하고 있다.[12)]

그러나 air-liquid interface(ALI) 배양을 사용하는 배양체계에서 배지에 들어 있는 각종 호르몬이나 성장인자들이 점액 및 비점액성 분비물에 어떤 효과를 갖는지에 대한 구체적인 보고가 없는 실정이다. 따라서 저자들은 표준배양액[4)]에 들어 있는 호르몬과 성장인자들을 한가지씩 제거함으로써 각각의 성분이 점액과 비점액성 분비물인 리소자임과 secretory leukocyte protease inhibitor(SLPI)의 분비에 미치는 영향을 연구하고자 하였다. 그중 인슐린은 인체 정상 호흡기 상피세포의 배양에서 세포의 성장에 빼놓을 수 없는 성분이었고 점액분비를 감소시킬 것으로 생각되었던 스테로이드 호르몬은 점액 분비에 영향을 주지 못하였다. 이를 확인하기 위해서는, 저자들은 한가지 스테로이드의 한 농도만 사용하였지만, 보다 강력한 스테로이드와 다양한 농도의 스테로이드를 사용하여 분비물에 대한

분비억제효과에 대한 연구가 필요하겠다. 한편 생체에서 분비를 억제하는 스테로이드 효과는 분비에 대한 직접적인 효과라기 보다는 염증성 매개체에 의한 점액분비 증가를 간접적으로 억제하는 것으로 생각할 수 있겠다. 그외 다른 인자들은 분비에 큰 영향이 없었고 다만 triiodothyronine과 콜라젠 젤만이 의미있는 결과를 얻어 이번 연구에서는 주로 triiodothyronine과 콜라젠 젤의 효과에 대해 초점을 맞추고자 하였다.

Triiodothyronine은 세포의 성장과 세포의 생존률을 높이기 위해 배양액에 첨가되어 사용되어 왔다(M. coleman, Clonetics Corp., San Diego, CA ; personal communication). Triiodothyronine은 유전자 전사를 촉진 혹은 억제시킬 수 있다고 하며 positive or negative thyroid hormone response elements가 이미 쥐의 성장호르몬, 쥐 thyrotropin 및 인체의 여러 각질유전자 등의 여러 유전자에서 보고되어 있다.[13)14)] 또한 호흡기에서 계면활성제 단백질과 산화방지효소 유전자 발현이 triiodothyronine에 의해 억제되는 것으로 보고되어 있다.[15)] 저자들은 triiodothyronine을 배양액에서 제거하였을 때 점액분비가 의의있게 증가하는 것으로 보아 인체 호흡기 상피세포에서도 triiodothyronine이 점액분비를 억제하는 것을 관찰하였다. 흥미롭게도 MUC2 발현은 배양된 인체 정상 기도상피세포와 인체 기도 점막에서 유사하였으나 MUC5AC 발현은 배양된 세포에서 훨씬 낮았다. 그러나 triiodothyronine가 없는 상태에서 배양된 상피세포에서 MUC2 발현에는 변화가 없었으나 MUC5AC 발현은 증가하였다. 이것은 triiodothyronine가 생체에서 점액의 성분 조절인자일 가능성을 암시한다 하겠다. 한편, 리소자임은 triiodothyronine을 배양액에서 제거하였을 때 mRNA 발현은 증가하였으나 단백질 분비는 변화가 없었다. SLPI 분비 및 유전자 발현은 triiodothyronine에 의해서는 영향을 받지 않았다. 따라서 triiodothyronine는 인체 기도 분비물의 아주 선택적인 조절인자로 나타났다. 한편, 임상적으로는 Knopfle[16)]은 점액의 과분비가 일어나는 점액성 낭종환자에서 T_3 및 T_4가 감소되어 있다는 것을 발견하여 잠재성 갑상선 기능저하증이 온다는 것을 보고하였고 Stagias 및 Marignani[17)]는 갑성선 기능저하증 환자에서 설사가 온다고 보고하였으며 Dudina 등[18)]은 급성 사골동염 환아에서 분비물이 많이 분비되는 시기에 잠재성 갑상선 기능저하증이 나타난다고 보고하였다. 이러한 임상적인 현상들은 생체에서도 국소적인 갑성선 기능저하증이 점액의 분비를 증가시킬 수 있다는 가능성을 제시하고 있어 이에 대한 자세한 기전적 연구가 필요하다 하겠다. 또한 retinoic acid와 갑상성 호르몬의 nuclear receptors는 같은 recognition elements를 이용한다는 보고에도[19)] 불구하고 점액분비에 대한 효과가 완전히 다르기 때문에 같은 nuclear receptors를 함께 자극하지만 실질적인 점액분비 기전은 또다른 경로에 의해 서로 다르게 작용할 것으로 생각된다.

지금까지의 많은 연구는 세포외기질이 유전자 발현, 분화 및 세포의 기능에도 영향을 주는 것으로 보고하고 있다. 그러나 인체 정상 기도상피세포에서 콜라젠 젤이 특정 분비물의 분비에 미치는 영향이나 특히 ALI 배양체계를 이용하였을 때 콜라젠 젤의 효과에 대해서는 아는 바가 없다. 이전의 연구는 기도 상피세포를 콜라젠 젤이 없이 배양액에 잠수시키거나 플라스틱 배양 용기에서 배양하였을 때는 상피세포들이 점액을 분비하지 않는다고 보고하고 있으며 또한 점액성 분비세포의 수와 점액의 양은 콜라젠 젤의 두께에 의해 영향을 받는다고 보고되어 있다.[20)] 저자들은 인체 정상기도상피세포들을 ALI를 이용하여 배양하였을 때 콜라젠 젤이 실질적으로 점액과 비점액성 분비물인 리소자임과 SLPI의 분비를 감소시켰는데 그 가능한 이유로는 콜라젠 젤이 오히려 배양액 내에 있는 영양분이 상피세포로 가는 것을 방해하고 있지 않나 하는 가능성을 생각해 볼 수 있다. MUC2와 MUC5AC 발현은 콜라젠 젤의 제거에 의해 영향을 받지 않았으나 리소자임과 SLPI 유전자 발현은 콜라젠 젤을 제거하였을 때 일관성 있게 증가하였다. 콜라젠 젤의 유무에 따른 기도 상피세포의 형태는 모두 2 4층의 상피세포로 이루어져 있었고 극성이 있었으며 모양이 원주상피세포로 되어 있었다. 이러한 결과는 ALI 배양체계를 이용한 인체 정상 기도상피세포에서 콜라젠 젤은 적어도 분비세포로의 분화와 점액, 리소자임 및 SLPI의 분비에는 필요하지 않은 것을 의미한다.

아직까지 어떤 점액 유전자가 중요한 유전자인지도 모르는 상태이나 triiodothyronine를 배양액에서 제거하였을 때 점액분비가 증가하였으며 MUC2 유전자의 증가없이 MUC5AC 유전자만이 증가하는 것을 보아 점액분비의 증가가 MUC5AC 유전자의 발현증가로 인한 것임을 암시하고 있다. 또한 이 연구가 MUC2와 MUC5AC 점액유전자가 서로 다르게 조절되고 있다는 첫번째 보고이나 향후 인체 기도 상피세포에서 중요한 점액성분이 무엇인지를 알아내는 것이 중요하다고 생각된다.

중심 단어 : Triiodothyronine · 콜라젠 젤 · 점액 · 리소자임 · SLPI.

REFERENCES

1) Basbaum C, Finkbeiner W. *Mucus producing cells of the airways.*

In Lung Cell Biology. D Massaro, editor. Marcel Dekker. New York;1989. p.7-79.

2) Basbaum C, Jany B, Finkbeiner W. *The serous cell. Annu Rev Physiol 1990;52:97-113.*
3) Davenport E, Nettesheim P. *Regulation of mucociliary differentiation of rat tracheal epithelial cells by type I collagen gel substratum. Am J Respir Cell Mol Biol 1996;14:19-26.*
4) Yoon JH, Kim SS, Park IY, Nettesheim P. *Regulation of mucin secretions and gene expression by retinoic acid in human airway epitheium Korean J Otolaryngol (submitted).*
5) Gray T, Guzman K, Davis CW, Abdullah L, Nettesheim P. *Mucociliary differentiation of serially passaged normal human tracheobronchial epithelial cells. Am J Respir Cell Mol Biol 1996;14: 104-12.*
6) Heinzel R, Appelhands H, Gassen G, Seemuller U, Machleidt W, Fritz H, Steffens G. *Molcular cloning and expression of cDNA for human antileukoprotease from cervix uterus. Eur J Biochem 1986; 160:61-7.*
7) Guzman K, Bader T, Nettesheim P. *Regulation of MUC5 and MUC1 gene expression: Correlation with airway mucous differentiation. Am J Physiol 1996;270:L846-53.*
8) Gum J, Hicks J, Toriara N, Siddiki B, Kim J. *Molecular cloning of human intestinal mucin (MUC2) cDNA; Identification of the amino terminus and overall similarity to preprovon Willebrand factor. J Biol Chem 1994;269:2440-6.*
9) Meerzaman D, Daskal C, Polymeropoulos M, Martin B, Rose M. *Cloning and analysis of cDNA encoding a Major airway glycoprotein, human tracheobronchial mucin (MUC5). J Biol Chem 1994;269: 12932-9.*
10) Chung L, Keshav S, Gordon S. *Cloning of human lysozyme cDNA: Inverted Alu repeat in the mRNA and in situ hybridization for macrophages and Paneth cells. Proc Natl Acad Sci USA 1988; 85:6227-31.*
11) Steiger D, Hotchkiss J, Bajaj L, Harkema J, and Basbaum C. *Concurrent increases in the storage and release of mucin-like molecules by rat airway epithelial cells in response to bacterial endotoxin. Am J Respir Cell Mol Biol 1995;12:307-14.*
12) Finkbeiner W, Carrier S, Teresis C. *Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) phenotypic analysis of cell cultures of human tracheal epithelium, tracheobronchial glands, and lung carcinomas. Am J Respir Cell Mol Biol 1993;9:547-56.*
13) Brent C, Moore D, Larsen P. *Thyroid hormone regulation of gene expression. Annu Rev Physiol 18991;53:17-35.*
14) Brent G, Williams G, Harney J, Forman B, Samucels H, Moore D, Larsen P. *Effects of varing the position of thyroid hormone responsive elements within the rat growth hormone promotor: Implications for positive and negative regulation by 3,5,3-triiodothyronine. Mol Endocrinol 1991;5:542-8.*
15) Valetza S, Nicholas K, Gross I, Hu H, Dynia D, Floros J. *Surfacant protein C: Hormonal control of SP-C mRNA levels in vivtro. Am J Physiol 1992;2262:L684-7.*
16) Knopfle G. *Das Schilddrusenhormonsystem bei Mukoviszidose. Klin Padiat 1985;197:481-8.*
17) Stagias JG, Marignani P. *Diarrhea, constipation, and hypothyroidism. J Clin Gastroenterol 1994;18:347-50.*
18) Dudina TA, Ageikin VA, Pekli FF, Lapshin VP. *The functional status of thyroid gland and adrenal cortex in newborn babies and infacts with acute ethmoiditis. Vest Otorhinolaryngol;1991 May 23-5.*
19) Umesono K, Giguere V, Glass CK, Rosenfeld MG, Evans RM. *Retinoic acid and thyroid hormone induce gene expression through a common responsive element. Nature 1988;336:262-5.*
20) Wu R, Martin W, Robinson C, St. *George J, Plopper C, Kurland G, Lase J, Cross C, McDonald R, Boucher R. Expression of mucin synthesis and secretion in human tracheobronchial epithelial cells grown in culture. Am J Respir Cell Mol Biol 1990;3:467-78.*